植 物 分 类 学 报 39(1):45~50(2001)
Acta Phytotaxonomica Sinica

北美香柏雌球果的发育

张泉 胡玉熹 林金星*
(中国科学院植物研究所 北京 100093)

Female cone development in *Thuja occidentalis*

ZHANG Quan HU Yu-Xi LIN Jin-Xing*
(*Institute of Botany, the Chinese Academy of Sciences*, Beijing 100093)

Abstract The development of female cone in *Thuja occidentalis* was investigated by means of SEM together with conventional sectioning technique. It was observed that the female cone initiation in *T. occidentalis* occurred in August by the transition of vegetative apices into seed cone apices in Beijing. Female cone in *T. occidentalis* consisted of 4~6 pairs of decussate bracts. Usually, two or three pairs of the fertile bracts in the middle of the cone subtended eight to twelve ovules. The first structure observed in the axil of the fertile bract was a broad swelling, on which two ovule primordia initiated. Furthermore, each ovule primordium differentiated a collar-like integument around the base of the nucellus, and the integument enclosed nucellus progressively and overgrew the nucellus, forming an ovule with a micropyle. During the ovule initiation, it was further noticed that three ovule primordia were initiated in each of the axil of lower fertile bracts in half of the female cones observed. However, only two ovules developed, for the middle primordium aborted in later stages, which indicated that the female cone of *T. occidentalis* might be derived from that with more ovules per bract of the ancestor by reduction of the number of ovule per bract. We also preliminarily investigated the vascular system development of the cone. There was only a middle trace in the bract of young cones. After pollination, with the intercalary growth of the bracts, 4 to 8 vascular bundles developed in the bracts. However, the new-formed vascular bundles did not show inverted orientation, which was reported as a feature in the cone development of Cupressaceae.

Key words *Thuja occidentalis*; Female cone development; Ovule initiation; SEM

摘要 用扫描电镜(SEM)观察了北美香柏 *Thuja occidentalis* 雌球果的发育过程。在北京,北美香柏的雌球果是在八月初由营养芽转变而来,雌球果一般有4~6对苞片,中间2~3对可育,每一苞片腋部着生两枚胚珠。在可育苞片腋部最先观察到一扁平的隆起,并在其上分化出两个胚珠原基,接着分化出珠被和珠心,最后形成扁平而两侧对称的胚珠。在北美香柏雌球果发育过程中,约一半的雌球果在2~3对可育苞片中位于下面的1~2对的腋部产生3个胚珠原基,中间一个较小,并在以后的发育中逐渐退化。由此推测北美香柏的雌球果可能是由祖先类群中每一苞片具多于2个胚珠的雌球果演化而来。在光镜下对雌球果维管系统的观察发现,传粉前幼小雌球果的苞片内仅有一束维管束,传粉后随着苞片基部的居间生长,有4~8束维管束在苞片内形成,但是新发育的维管束木质部和韧皮部相对位置与正常叶性器官一致,这与在以往报道的柏科植物成熟雌球果的苞片中均有反向维管束的发育不同。北美香柏雌球果早期发育和维管束分析结果支持傅德志和杨亲二提出的解释裸子植物生殖器官形态演化的"苞鳞-种鳞复合体"理论。

关键词 北美香柏; 雌球果的发育; 胚珠分化; SEM

2000-06-02收稿,2000-11-08收修改稿。
基金项目:中国科学院生物局创新基金,中国科学院重点基金(批准号:K2591-B1-102)和中国科学院植物研究所系统与进化植物学开放研究实验室资助。

* 通讯联系人,E-mail: <linjx@ihw.com.cn>.

裸子植物雌球果的特征和被子植物的花部性状一样是研究植物系统学的关键特征之一。研究裸子植物雌球果各部分分化的时间和空间顺序,并比较在不同植物类群中分化式样的差异,有助于揭示雌球果各部分结构的形态学本质和演化方向,进而为探讨裸子植物的亲缘关系提供重要依据。柏科是裸子植物中唯一的一个广布于南北两半球的科。李惠林在比较研究了肖楠属 *Libocedrus* 和翠柏属 *Calocedrus* 的雌球果结构之后澄清了两个属之间的关系,进而提出将分布于南北两半球的柏科植物分为两个亚科的观点(Li, 1953),这一观点已为大多数学者所接受(江泽平,王豁然,1997;Page, 1990; Hart, Price, 1990)。Takaso 和 Tomlinson(1989a)对南半球的澳洲柏属 *Callitris* 和肖楠属(Tomlinson *et al*., 1993)雌球果的形态发生进行了详细观察,但对北半球的柏科植物进行的类似细致观察尚未见报道。本文对分布于北半球的崖柏属 *Thuja* 的北美香柏 *T. occidentalis* 雌球果各部分分化过程及传粉前后雌球果的维管束变化进行了研究,并结合前人有关资料,对其系统学意义进行了探讨。

1 材料和方法

北美香柏的雌球果取自于中国科学院植物研究所植物园内栽培植株,从 1999 年 7 月到 2000 年 4 月,每周取材一次,FAA 固定保存。

1.1 扫描电镜(SEM)观察雌球果的胚珠发育

选取不同时期采集固定的雌球果,经酒精系列脱水,并在解剖镜下拨除苞片,露出胚珠。然后将剥好的材料经 100% 的酒精和乙酸异戊酯系列脱水,经 CO_2 临界点干燥后即可粘台,镀膜,在 Hitatchi S-800 扫描电镜下观察。

1.2 石蜡切片观察雌球果的维管系统

取传粉前(2000 年 2 月 14 日)和传粉后(2000 年 4 月 20 日)的雌球果,经 FAA 固定和酒精系列脱水后,二甲苯透明,浸蜡,包埋后用 AO 切片机切片,厚度 8~12 μm。苏木精-番红或番红-固绿染色。

2 观察结果

2.1 雌球果的发育过程

八月初,位于主枝近顶端侧枝上的营养芽逐渐转变为雌性生殖芽。雌球果的各部分结构大约在两周内分化完全,形成幼小的雌球果,直立着生于侧展的枝条上。十一月至次年一月处于休眠状态,二月恢复生长。三月中旬传粉时,雌球果的苞片张开露出胚珠。此时裸露的胚珠产生传粉滴,以捕捉散落的花粉。传粉后,由于苞片基部的居间生长将胚珠包被,并使苞片边缘略向外反卷。随着雌球果的生长,苞片逐渐长大且革质化。雌球果有 4 到 6 对苞片,一般是中间的 2 到 3 对可育。每一可育苞片腋部分化出两枚胚珠,胚珠两侧的珠被延伸,形成种翅。十月雌球果成熟,果鳞张开,种子散落。通常每一球果可产生 8~16 枚带翅的种子。

2.2 胚珠的发育过程

通过对北美香柏雌球果不同发育阶段的结构进行扫描电镜观察,可以清晰地揭示其各部分的分化和发育过程。雌球果由营养芽转变而来,营养芽中叶原基的分化位置靠近

茎顶端的基部(图版Ⅰ:1)，而生殖芽的苞片原基相继向顶分化，位于最顶端的一对苞片为不育苞片，苞片分化的方式与叶片一样，均为交互对生(图版Ⅰ:2)。在雌球果中部的1~2对可育苞片腋部首先分化出一隆起(图版Ⅰ:3，箭头所示)，然后在这一隆起的两端分化出两个胚珠原基(图版Ⅰ:4)，两轮可育苞片腋部的胚珠几乎同时分化。由胚珠原基形成珠被和珠心(图版Ⅰ:5,6)，珠被生长超过珠心，并在顶端形成一个珠孔，成为扁平的、两侧对称的胚珠(图版Ⅰ:10,11)。此时，北美香柏雌球果的各部分均已分化完全，整个过程大约两周时间。次年3月中旬传粉时，雌球果的苞片张开露出烧瓶状胚珠(图版Ⅰ:12)。值得注意的是，处于胚珠原基分化和珠被形成早期的雌球果中，约有一半雌球果的2到3对可育苞片中，位于下面的1或2对苞片，其腋部分化3个胚珠原基，中间一个较小(图版Ⅰ:7，箭头所示)，并在以后的发育中逐渐退化，最终不发育成为胚珠(图版Ⅰ:8,9箭头示中间一退化胚珠原基)。

2.3 雌球果的维管系统

从传粉前的雌球果横切面上看，球果轴的维管束有6到8束维管束排成一环，其中4束属于球果轴本身，其余的是延伸到位于横切面之上的苞片维管束。每一苞片仅有一束维管束，其木质部向近轴面，韧皮部朝向远轴面(图1:1)。

传粉后雌球果轴维管束的结构和数目与传粉前相同。此时，苞片结构有较大变化，其基部发生剧烈的居间生长，体积迅速增大，并有新发育的维管束，且4至8束排成一列。值得注意的是，其维管束的木质部均朝向近轴面，而韧皮部朝向远轴面，与正常叶性器官的维管束定向相同，并且与传粉前苞片的维管束一起排成一列(图1:2)。这些维管束在苞片基部由球果轴的维管束发出(图1:3)。从通过第4对苞片基部的横切面上看，由球果轴辐射出的维管束延伸到苞片，但未发生木质部和韧皮部相对位置的改变(图1:4)。

3 讨　论

3.1 胚珠的发育

上述对北美香柏雌球果各部分原基的发生和发育的研究揭示了其雌球果各部分发生的相对位置和时间顺序。在北美香柏成熟的雌球果中，每一可育苞片腋部有两枚种子，但在雌球果发育早期，约有一半的雌球果在2~3对可育苞片中位于下面1~2对，其腋部分化出3个胚珠原基，中间一个逐渐退化，不再发育为胚珠。由此推测北美香柏的祖先类群中，雌球果每一苞片的胚珠可能多于两枚，但在长期的演化过程中，每一苞片的胚珠数目减少，最后形成北美香柏每一苞片仅具两枚胚珠雌球果。但在胚珠分化阶段仍有退化胚珠的原基发生，只是在后期停止了发育。Takhtajan (1953)则认为胚珠数目减少是雌球果的一个演化趋势。在崖柏属中与北美香柏亲缘关系最近的北美乔柏 *Thuja plicata* 雌球果每一苞片有3枚胚珠(Owens, Molder, 1980)，而北美香柏雌球果苞片腋部分化出3个胚珠原基，但中间一个原基在后期退化。北美乔柏的雌球果可能比北美香柏的雌球果原始。另外，在柏科中与崖柏属亲缘关系最近的侧柏属 *Platycladus*，其雌球果一般具4对果鳞，中间两对可育果鳞腋部形成1~2枚胚珠，每一雌球果的果鳞及胚珠数均少于崖柏属(Martin,1950)。李惠林在探讨柏科的分类时，图示了各个属雌球果的相互关系及可能的演化方向，并指出柏科植物雌球果主要的演化趋势为可育果鳞和胚珠数目的减少，并推断

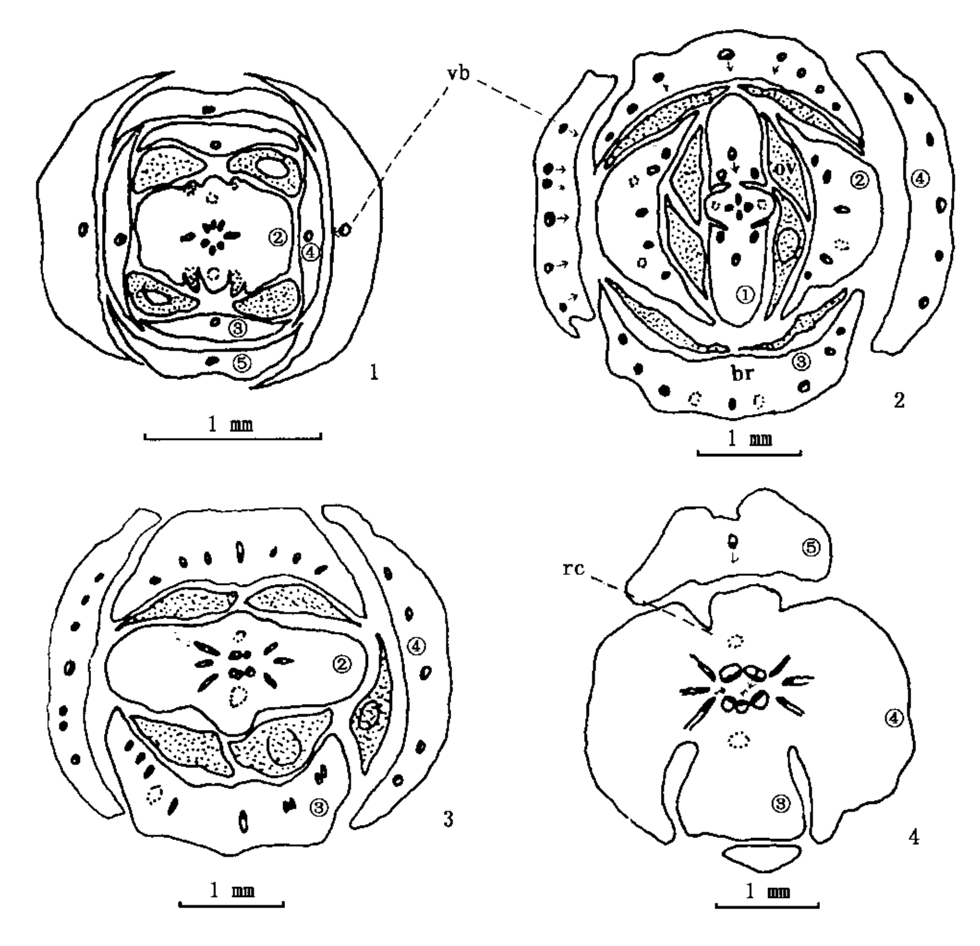


图1 北美香柏雌球果的维管系统

1. 传粉前(2000年2月14日),通过北美香柏雌球果中部的横切面,苞片中仅有一束维管束; 2～4. 传粉后(2000年4月20日),北美香柏雌球果系列横切面: 2. 通过第2对苞片(即最靠雌球果顶端的可育苞片)中部的横切面,示苞片中新发育的维管束(注意其木质部和韧皮部的相对位置); 3. 通过第2对苞片基部的横切面,示苞片的维管束由球果轴发出; 4. 通过第4对苞片基部的横切面。br, 苞片; ov, 胚珠(加点部分); rc, 树脂道(虚线); vb, 维管束,箭头示维管束中木质部的朝向;苞片上的数字表示从雌球果顶端向下苞片对的序号。

Fig. 1 Vascular system in female cone of *Thuja occidentalis*

1. Transverse section in the middle of the cone before pollination, showing the only vascular bundle in each bract; 2～4. Serial transverse sections of the cone a month after pollination: 2. Transverse section in the middle of the 2nd pair of bracts (upper fertile bracts), showing the new-developed vascular bundles in the bracts (note the orientation of the xylem and phloem); 3. Transverse section at the base of the 2nd pair of bracts, showing the vascular trace branching into the 2nd pair of bracts; 4. Transverse section at the base of the 4th pair of bracts. br, bract; ov, ovule (stippled); rc, Resin canals (dotted out line); vb, vascular bundle, arrows indicating orientation of the xylem; numbers on the bracts indicate order of the pairs of bracts from the cone apex downwards.

崖柏属较侧柏属原始(Li, 1953)。本文对北美香柏雌球果发育过程的研究表明,在同一属内和不同属间都存在这一演化趋势。

Owens和Molder (1980)曾观察过北美乔柏 *Thuja plicata* 的雌球果发育,发现雌球果苞片腋部已分化出3个胚珠原基,但没有观察发育阶段更早的雌球果,因而无法判断胚珠原基是否独立发生。侧柏 *Platycladus orientalis* 的胚珠分化过程中,在可育苞片腋部最先出

现的是一较扁平的隆起，在其上又分化出胚珠原基(Zhang *et al*., 2000)，北美香柏的胚珠分化过程与侧柏相似。对柏科其它属如澳洲柏属(Takaso, Tomlinson, 1989a)和肖楠属(Tomlinson *et al*., 1993)的雌球果发育的研究中，都发现胚珠是独立发生的，胚珠原基直接在苞片腋部分化。另外，在Takaso和Tomlinson(1989b)对杉科柳杉属 *Cryptomeria* 的雌球果发育的研究中，也观察到苞片腋部先出现一个原基，然后在这个原基上分化出胚珠原基和齿(种鳞)原基，他们认为腋生原基代表枝复合体。侧柏和北美香柏在苞片腋部最先出现的隆起可能是退化的次级枝复合体。

3.2 雌球果的形态学探讨

传粉后，随着雌球果苞片基部的居间生长，有4～8束新的维管束发育，但引人注意的是其维管束木质部和韧皮部的相对位置与正常叶性器官一样，即木质部向近轴面，韧皮部朝向远轴面，这不同于以往对柏科雌球果结构的报道，例如，在许多早期的研究中，都认为柏科中种鳞和苞鳞完全合生，其主要依据是苞鳞近轴面存在一系列反向的维管束(Page, 1990; Gifford, Foster, 1988; Sporne, 1974; Lemoine-Sebastian, 1972; Florin, 1954; Worsdell, 1899; van Tieghem, 1869)。近年来，对澳洲柏属(Takaso, Tomlinson, 1989a)，肖楠属(Tomlinson *et al*., 1993)和侧柏属(Zhang *et al*., 2000)雌球果个体发育的研究结果均不支持上述种鳞和苞片合生的观点，在它们的成熟雌球果中的反向维管束是传粉后随苞片的居间生长而发育的结果。在北美香柏雌球果个体发育中也未观察到独立的种鳞发生。

傅德志和杨亲二(1993)发展了Florin(1954)的"种鳞复合体"概念，提出"苞鳞-种鳞复合体"理论，认为："松杉类的复系大孢子叶球的每一生殖单位，系由一主轴上不育叶性苞片(苞鳞)和其腋部发出的可育枝性结构(种鳞)共同组成的苞鳞-种鳞复合体结构。苞鳞-种鳞复合体的各个组成部分，包括苞鳞、次级轴和次级轴上的可育叶性成分均可发生数目、形状、质地、融合以及其它方面的各种独立或相关的变异，由此可能形成裸子植物中复合大孢子叶球的多种变异式样。"对北美香柏雌球果早期发育研究和对其维管束的分析表明：北美香柏的雌球果是复合孢子叶球，其腋生次级轴退化，胚珠发育于苞片腋部，在成熟雌球果中革质的鳞片实质上是由早期的苞片发育而来。该结果支持"苞鳞-种鳞复合体"理论。

致谢 感谢肖荫厚高级实验师在扫描电镜观察中给予帮助。

参 考 文 献

Florin R, 1954. The female reproductive organs of conifers and taxads. Bio Rev, 29: 367～389

Fu D-Z(傅德志), Yang Q-E(杨亲二), 1993. A new morphological interpretation of the female reproductive organ in *Ginkgo biloba* L. with a phylogenetic consideration on gymnosperms. Acta Phytotax Sin (植物分类学报), 31(3): 294～296; 31(4): 309～317

Gifford E M, Foster A S, 1988. Morphology and Evolution of Vascular Plants. 3rd ed. New York: W H Freeman and Company. 424～432

Hart J A, Price R A, 1990. The genera of Cupressaceae (including Taxodiaceae) in the southeastern United States. J Arn Arbor, 71: 275～322

Jiang Z-P(江泽平), Wang H-R(王豁然), 1997. Taxonomy of Cupressaceae: subfamilies, tribes and genera. Acta Phytotax Sin (植物分类学报), 35(3): 236～248

Lemoine-Sebastian C, 1972. Étude comparative de la vascularisation et du complexe séminal chez les cupressacées.

Phytomorphology, 22: 246 ~ 260

Li H-L, 1953. A reclassification of *Libocedrus* and Cupressaceae. J Arn Arbor, 34:17 ~ 35

Martin P C, 1950. A morphological comparison of *Biota* and *Thuja*. Proc Penn Acad Sci, 24: 65 ~ 112

Owens J N, Molder M, 1980. Sexual reproduction in western red cedar (*Thuja plicata*). Can J Bot, 58:1376 ~ 1393

Page C N, 1990. Cupressaceae. In: Kubitzki K ed. The Families and Genera of Vascular Plants Ⅰ: Pteridophytes and Gymnosperms. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag. 302 ~ 316

Sporne K R, 1974. The Morphology of Gymnosperms. 2nd ed. London: Hutchinson. 144 ~ 147

Takaso T, Tomlinson P B, 1989a. Cone and ovule development in *Callitris* (Cupressaceae-Callitroideae). Bot Gaz, 150(4): 378 ~ 390

Takaso T, Tomlinson P B, 1989b. Aspect of cone and ovule ontogeny in *Cryptomeria* (Taxodiaceae). Amer J Bot, 76(5): 692 ~ 705

Takhtajan A, 1953. Phylogenetic principles of the system of higher plants. Bot Rev, 19: 1 ~ 45

Tomlinson P B, Takaso T, Cameron E K, 1993. Cone development in *Libocedrus* (Cupressaceae) —— phenological and morphological aspects. Amer J Bot, 80(6): 649 ~ 659

van Tieghem P, 1869. Anatomie comparée de la fleur femelle et du fruit des Cycadées, des Coniféres et des Gnétacées. Ann Sci Nat Bot, 5 série, 10: 269 ~ 304

Worsdell W C, 1899. Observations on the vascular system of the female 'flowers' of Coniferae. Ann Bot, 13: 527 ~ 548

Zhang Q (张泉), Xing S-P (邢树平), Hu Y-X (胡玉熹) *et al*., 2000. Cone and ovule development in *Platycladus orientalis* (Cupressacese). Acta Bot Sin (植物学报), 42(6): 564 – 569

Zheng W-J(郑万钧), Fu L-G(傅立国), 1978. Cupressaceae. In: Fl Reip Pop Sin. Beijing: Science Press. 7: 313 ~ 398

图版说明 Explanation of plate

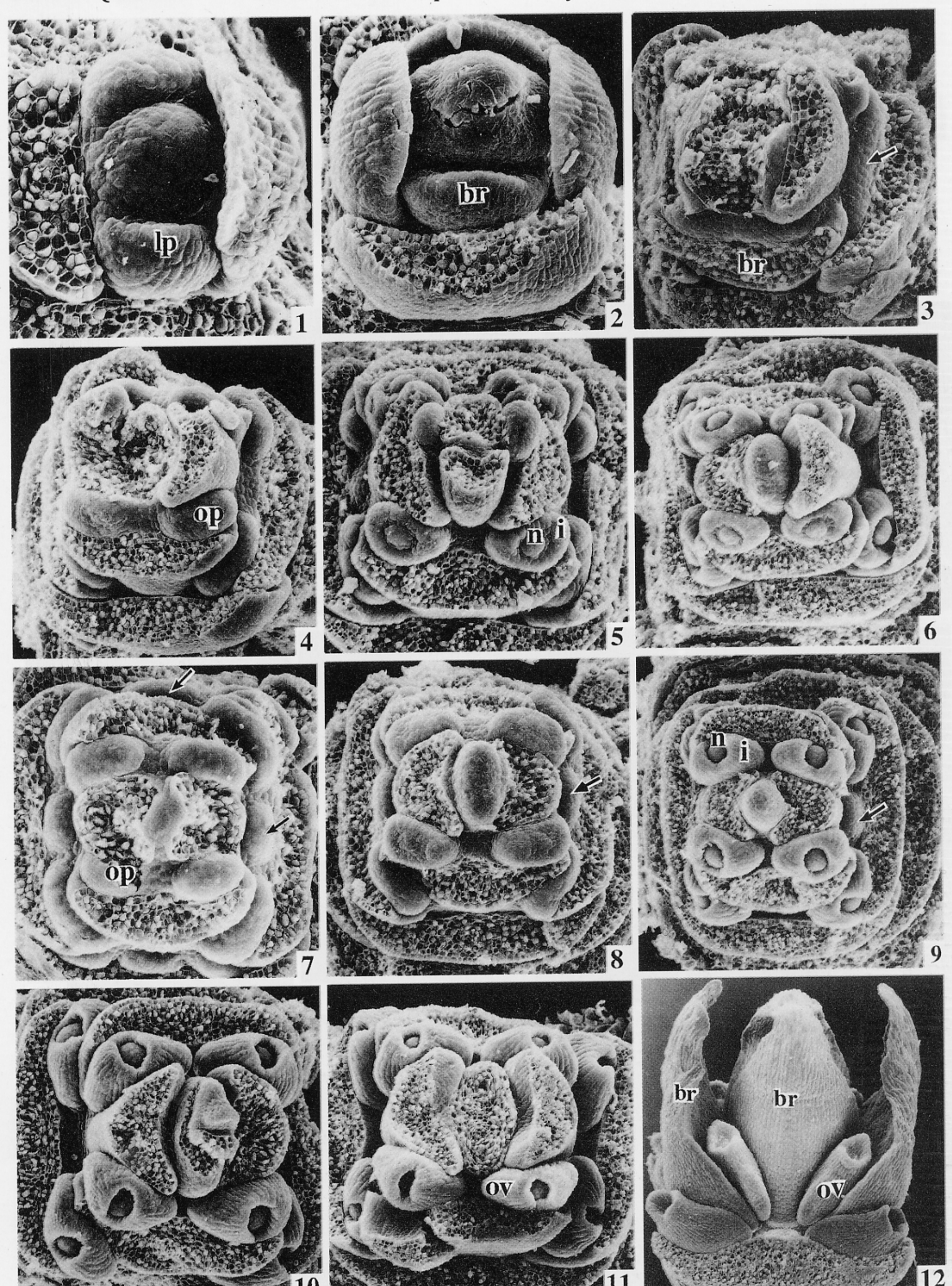
图版Ⅰ br. 苞片; i. 珠被; lp. 叶原基; n. 珠心; op. 胚珠原基; ov. 胚珠.

1 ~ 12. 不同发育阶段北美香柏的雌球果扫描电镜观察结果 1. 营养芽顶端(×250); 2. 雌性生殖芽顶端,示苞片开始分化(×200); 3. 雌球果发育早期,示苞片腋部形成一隆起(箭头所示)(×150); 4. 胚珠原基开始分化(×120); 5. 珠被原基开始分化(×120); 6. 珠被生长(×100); 7 ~ 9. 可育苞片分化出3枚胚珠原基的情况,与4 ~ 6的发育时期相对应。7. 胚珠原基分化,3对可育苞片中,下面两对可育苞片腋部各分化出3个胚珠原基,中间一个(箭头所示)较小(×150); 8. 珠被原基开始分化(×120);9. 胚珠原基分化出珠被和珠心,注意两对可育苞片中下面一对可育苞片腋部中间一个原基(箭头所示)不发育(×100); 10. 珠被继续生长,逐渐包被珠心(×100); 11. 形成扁平而两侧对称的胚珠(×100); 12. 传粉时的雌球果,苞片张开露出胚珠(×60)。

Plate Ⅰ br. Bract; i. Integument; lp. Leaf primordium; n. Nucellus; op. Ovule primordium; ov. Ovule

1 ~ 12. SEM photographs of dissected seed cones of *Thuja occidentalis* at successive stages of development. 1. Vegetative apex (×250); 2. Female reproductive apex (×200); 3. Early stage of famale cone development, showing the broad swellings (arrow) in the axil of fertile bracts initiated (×150); 4. Initiation of ovule primodium(note the position of the ovule primordium initiated) (×120); 5. Initiation of the integument (×120); 6. Differentiation of the integument and nucellus from the ovule primordium (×120); 7 ~ 9. The cones had three ovule primordia initiated in the axil of lower fertile bracts, at the same development stage as 4 ~ 6; 7. Initiation of ovule primordium, showing three ovule primordia initiated in the axil of the lower fertile bracts, the middle one (arrow) being smaller (×150); 8. Initiation of the integument (×120); 9. Integument and nucellus differentiated[note the middle ovule primordium aborted (arrow)] (×100); 10. Late stage of ovule initiation[note the middle primordium aborted (arrow)] (×100); 11. Showing the bilaterally symmetric ovule (×100); 12. Female cone at pollination time, showing the open bracts (×60).

(责任编辑 汪桂芳)



See explanation at the end of text